

SPINOSINI – INSEKTICIDI BIOLOŠKOG PODRIJETLA

Maja ČAČIJA, Renata BAŽOK, Darija LEMIĆ, Martina MRGANIĆ, Helena VIRIĆ

, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

mcacija@agr.hr

Prihvaćeno: 16-11-2018

SAŽETAK

Spinosini su grupa insekticida koja pokazuje visoko insekticidno djelovanje protiv mnogih ekonomski važnih štetnika na poljoprivrednim kulturama. Učinkoviti su i protiv parazita na stoci, kućnim ljubimcima i ljudima. Ubrajamo ih u naturalite jer su to biološki aktivne tvari dobivene fermentacijom iz bakterije *Saccharopolyspora spinosa*. Najvažniji su spinosini koji pokazuju izvrsno insekticidno djelovanje spinosad i njegov polusintetični derivat spinetoram. Imaju jedinstven mehanizam djelovanja na živčani sustav kukca te uzrokuju neprekidne kontrakcije mišića, paralizu i smrt. Primjenjuju se u suzbijanju velikog broja štetnika na koje djeluju želučano i kontaktno, pri čemu spinetoram pokazuje brže i jače insekticidno djelovanje nego spinosad. U usporedbi s mnogim drugim insekticidima, pokazuju veću selektivnost prema ciljanim štetnicima, poštedeju korisne kukce i nemaju negativan utjecaj na sisavce, ptice i vodene životinje. Zahvaljujući jedinstvenom načinu djelovanja, rijetko je zabilježena pojava rezistentnosti. Spekter primjene, mehanizam djelovanja i nizak utjecaj na okoliš čine spinosine učinkovitim biološkim insekticidima koji se mogu upotrebljavati u modernoj integriranoj zaštiti od štetnika.

Ključne riječi: biološki insekticidi, naturaliti, spinetoram, spinosad

SPINOSYNS - NATURALLY DERIVED INSECTICIDES**SUMMARY**

Spinosyns are a class of insecticides which show potent insecticidal activities against many commercially significant species that cause extensive damage to crops and other plants. They are also used to suppress external parasites of livestock, companion animals and humans. Spinosyns are derivative of biological active substances produced by soil Actinomycete

Saccharopolyspora spinosa and they belong to a group of naturalyte insecticides. The most important spinosyns are spinosad and spinetoram, a semisynthetic second-generation spinosad derivative. Spinosyns have a unique mechanism of action and act on insect neurons, resulting in involuntary muscle contractions, eventually leading to paralysis and death. They are used in suppressing a large number of pests that get affected through contact or ingestion, with spinetoram showing faster and stronger insecticidal activity than spinosad. In comparison with many other insecticides, the spinosyns generally show greater selectivity toward target insect pests and lesser activity against many beneficial predators as well as mammals, aquatic and avian animals. Thanks to their mode of action the resistance phenomena are uncommon, with few reported cases so far. Their insecticidal spectrum, unique mechanism of action and lower environmental effect make them useful new biological agents for use in modern integrated pest management programs.

Key words: biological insecticides, naturalyte, spinetoram, spinosad

UVOD

Prirodni produkti s insekticidnim djelovanjem predstavljaju vrijedne izvore za proizvodnju raznovrsnih novih kemijskih molekula u agrokemijskoj industriji (Demain i Sanchez, 2009). Produkti čija djelatna tvar nastaje prirodnim procesima poput fermentacije u bakterijama nazivaju se derivatima mikroorganizama, odnosno naturalitima. Ubrajaju se u biološke insekticide. Spinosini su jedinstvena skupina insekticida iz skupine naturalita. Najznačajniji spinosin je spinosad, biološki aktivna tvar izolirana iz zemljišne bakterije *Saccharopolyspora spinosa*, Mertz and Yao, 1990 (Mertz i Yao, 1990). Sintetizirani su i brojni derivati od kojih je najvažniji spinetoram (Sparks i sur., 2001). Djeluju želučano i kontaktno, zbog čega pokazuju dobar insekticidni učinak na brojne kukce prvenstveno iz redova Lepidoptera i Diptera, a zatim i Thysanoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera i drugih (Bret i sur., 1997; Shimokawatoko i sur., 2012; Sparks i sur., 1995). Zahvaljujući širokoj primjeni i specifičnom načinu djelovanja, u integriranoj zaštiti bilja predstavljaju važnu komercijalno iskoristivu alternativu klasičnim insekticidima, posebice zato što je rezistentnost zabilježena u rijetkim slučajevima (Thompson i Hutchins, 1999). Ne pokazuju unakrsnu rezistentnost s piretroidima, organofosfornim insekticidima i regulatorima rasta i razvoja kukaca (Roe i sur., 2010). Ekološki su povoljni jer su učinkoviti u malim dozama te uglavnom pošteđuju korisne kukce i druge životinje. Zbog niskog štetnog utjecaja na okoliš i korisne organizme neki su spinosini dopušteni za korištenje i u organskoj proizvodnji (EGTOP, 2016). U ovom je radu dan pregled najvažnijih značajki spinosina, njihov razvoj, ekotoksikološki profil i mogućnosti primjene u suzbijanju štetnika.

OTKRIĆE SPINOSINA

Otkriće avermektina i milbemektina, naturalita sa snažnim insekticidnim djelovanjem, uvelike je doprinijelo razvoju veterinarske medicine (Kornis, 1995) te su ta otkrića potaknula pronalaženje drugih novih molekula koje bi pokazale slično ili jače djelovanje na štetnike. Istraživanja su se zato usmjerila na „netradicionalne“ mikroorganizame, odnosno slabo istraživane rodove. Nakon pronalaska nepoznate bakterije u uzorcima tla s Karipskog otočja 1982. godine, bakterija je determinirana kao nova vrsta iz rijetkog roda zemljišnih aktinomiceta i nazvana *Saccharopolyspora spinosa*, Mertz and Yao, 1990 (Mertz i Yao, 1990). Istraživanjem fermentata ove nove bakterije zapaženo je jako insekticidno djelovanje na ličinke komaraca. Fermenti nisu imali fungicidan i antibakterijski učinak pa je zaključeno da se radi o selektivnoj insekticidnoj tvari koja bi mogla imati drugačiji profil od do tada poznatih insekticida te bi ju valjalo dalje istražiti (Kirst i sur., 1993). Izolirane insekticidne komponente dobile su, prema bakteriji iz koje su izolirane, naziv spinosini (Thompson i sur., 1995).

BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE SPINOSINA

Aerobnom fermentacijom bakterije *S. spinosa* nastaje prirodna smjesa koja sadrži spinosin A kao glavnu komponentu (oko 85 %) i spinosin D kao manje zastupljenu komponentu (oko 15 %) (Kirst i sur., 1992). Takva smjesa nazvana je spinosad (Thompson i sur., 1995). Budući da je spinosad pokazao izvrsno insekticidno djelovanje, Dow AgroScience pokrenuo je program istraživanja kemije spinosina kako bi se proširila primjena i pojačala insekticidna svojstva (Sparks i sur., 2001). U programu je izolirano i identificirano više od 20 različitih spinosina kao prirodnih analoga spinosina A (DeAmicis i sur., 1997; Sparks i sur., 1999), a proizvedeno je i više od 800 polusintetičkih derivata koji su nazvani spinosoidi (Crouse i sur., 2001). Većina ovih produkata izolirana je fermentacijom mutiranih sojeva bakterije *S. spinosa* jer prirodna smjesa nije davala dovoljne količine produkata (Salgado i Sparks, 2010). Svim navedenim molekulama zajedničko je to što su po temeljnoj strukturi makrociklični laktoni, a međusobno se razlikuju po modifikacijama pojedinih kemijskih grupa ili šećera (Kirst, 2010).

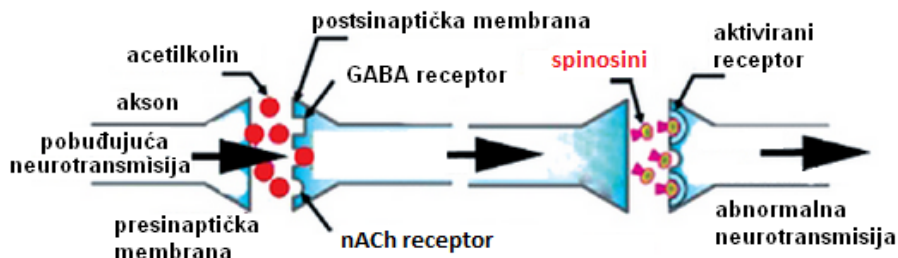
Uz spinosin D, koji je po strukturi 6-metil-spinosin A, modifikacijama metilne skupine spinosina A nastali su prirodni spinosini E i F (Kirst, 2010). Ostali prirodni analozi, spinosini H, J, B i C, nastali su modifikacijama šećera, dok je zamjenom šećera nastao spinosin G (Graupner i sur., 2005; Kirst i sur., 1992). Spinosin K otkriven je kasnije (Sparks i sur., 1996). Daljnjim modifikacijama navedenih analoga proizvedeni su brojni drugi prirodni spinosini (L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, Y) (Salgado i Sparks, 2010).

Fermentacijom smjese spinosina J i spinosina L dobivena je smjesa 3'-O-etil-5,6-dihidro-spinosina J i 3'-O-etil-spinosina L, nazvana spinetoram. Komponente, generičkih imena XDE-175-J i XDE-175-L, prisutne su u omjeru 3 : 1 (PPDB, 2018). Spinetoram je polusintetični derivat koji je pokazao jače i brže insekticidno djelovanje nego spinosad (Crouse i sur., 2007). Njegovo je otkriće nagrađeno 2008. godine nagradom „Presidential Green Chemistry Challenge Award for Designing Greener Chemicals“ (Kirst, 2010).

U novije su vrijeme metaboličkim inženjeringom proizvedeni i 21-ciklobutil-spinosin A i 21- ciklobutil-spinosin D koji u suzbijanju određenih štetnika pokazuju bolja svojstva nego spinosini A i D (Huang i sur., 2009). Također, otkrivena je druga vrsta bakterije, *Saccharopolyspora pogona*, koja proizvodi više od 30 strukturno sličnih molekula. One su 2-butenil analozi spinosina A i D te se nazivaju butenil-spinosini ili pogonini, a pokazuju insekticidno djelovanje slično spinetoramu (Lewer i sur., 2009). U najnovijim su istraživanjima testirane nove, pojednostavnjene molekule bez makrocikličnog prstena koje oponašaju spinosine te se pokazalo da neke imaju višestruko (> 2700 puta) jače insekticidno djelovanje na određene štetnike iz reda Lepidoptera (Crouse i sur., 2018).

MEHANIZAM DJELOVANJA

Mehanizam na temelju kojega spinosini pokazuju insekticidno djelovanje različit je od bilo kojega do danas poznatog mehanizma djelovanja insekticida, no još uvijek nije u potpunosti objašnjen (Salgado i Sparks, 2010). Poznato je da djeluju kao alosterični aktivatori nikotin acetilkolinskih receptora (nAChR) (IRAC, 2018), a kasnijim je istraživanjima ustanovljeno da istovremeno djeluju antagonistički na receptore γ -aminomaslačne kiseline (GABA), zbog čega je njihov mehanizam djelovanja jedinstven (Orr i sur., 2009). Prema tome, spinosini remete rad živčanog sustava poticanjem rada motornih neurona i uzrokovanjem neprekidnih kontrakcija mišića (slika 1.), a posljedica je toga njihova paraliza i brzo iscrpljivanje kukca do smrti unutar jednog do dva dana (Salgado, 1998).



Slika 1. Shematski prikaz vezanja spinosina na nACh i GABA receptore (prilagođeno prema Bacci i sur., 2016)

Figure 1 Sheme of spinosyn binding to nACh and GABA receptors (adapted according to Bacci et al., 2016)

Ono što do danas nije u potpunosti poznato jest na koje se točno podjedinice receptora spinosini vežu. U slučaju nAChR vežu se na nikotinske podjedinice različite od onih na koje se vežu neki drugi insekticidi (primjerice neonikotinoidi) (Watson, 2001). Kod vrste *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 ustanovljeno je da se vežu na posebnu vrstu nikotinske podjedinice $\alpha 6$ (Perry i sur., 2015), no potrebna su daljnja istraživanja koja bi potvrdila da je vezanje na navedenu podjedinicu univerzalno kod svih štetnika. Zanimljive rezultate, koji pokazuju jačinu insekticidnoga djelovanja, pokazala su istraživanja na žoharima prema kojima je za aktivaciju nAChR spinosinom A potrebna nanomolarna, dok je za aktivaciju istih receptora neonikotinoidima potrebna puno veća mikromolarna koncentracija. U većim pak mikromolarnim koncentracijama spinosin A djeluje slabo antagonistički na nAChR (Salgado i Saar, 2004).

OTROVNOST I OPASNOST ZA ČOVJEKA I ŽIVOTINJE

Učinkovitost insekticida na ciljanog štetnika jedna je od najvažnijih značajki koja se uzima u obzir pri komercijalizaciji, no utjecaj na čovjeka, životinje, korisne kukce, neciljane organizme te ponašanje u okolišu jednako su važni pri registraciji proizvoda. U usporedbi s mnogim drugim insekticidima, spinosini su općenito najmanje otrovni za neciljane organizme uključujući sisavce, ptice i druge kralješnjake te biljke (Bacci i sur., 2016).

Spinosad je vrlo nisko akutno otrovan za sisavce i ne smatra se opasnim za ljudsko zdravlje. Prema otrovnosti ubraja se u grupu III (EPA, 1999). Oralna srednja letalna doza (LD_{50}) u štakora iznosi 3738 mg/kg za mužjake i > 5000 mg/kg za ženke. Akutne dermalne doze u zečeva su > 2000 mg/kg, a inhalacijska srednja letalna koncentracija (LC_{50}) u štakora je > 5,18 mg/l (EPA, 1997). Spinosad se brzo apsorbira i metabolizira u štakora, pri čemu se 60 do 80 % spinosada ili njegovih metabolita izlučuje urinom ili fecesom. Za kroničnu otrovnost pokazano je da je doza pri kojoj se ne opažaju negativni učinci (NOAEL) 4,98 mg/kg/dan u pasa i 6 mg/kg/dan u miševa. Prema tim je podacima Američka agencija za zaštitu okoliša (EPA) odredila referentnu dozu (RfD) za čovjeka od 0,0268 mg/kg/dan (EPA, 1997). Spinosad ne pokazuje kancerogeno, teratogeno, mutageno ili neurotoksično djelovanje na sisavcima ni pri najvećim testiranim dozama, iako je moguće da ima neke učinke na GABA i druge receptore u mozgu sisavaca (Salgado, 1998). Spinosad je malo otrovan za ptice te umjereno otrovan za ribe i vodene beskrlešnjake. U laboratorijskim se testovima pokazao jako otrovnim za kamenice i druge mekušce (EPA, 1997).

Prema EPA (2009b), spinetoram se smatra toksikološki identičnim spinosadu. Nisko je akutno toksičan za sisavce i ptice unesen oralnim, dermalnim ili inhalacijskim putem. Testovi subkronične otrovnosti nisu pokazali negativne učinke na preživljavanje kod miševa, štakora i pasa, no opažen je

utjecaj na smanjenje težine i izazivanje anemije. Psi su bili toksikološki najosjetljiviji na spinetoram jer su zapažene razne promjene (atrofije, artritis, nekroze). Zapažen je i negativan utjecaj na plodnost ženki štakora, no učinci nisu bili zabilježeni na potomstvu. Slično spinosadu, spinetoram ne pokazuje kancerogeno i neurotoksično djelovanje na sisavce. Smatra se da je spinetoram najviše opasan za ribe i vodene beskralješnjake. Opasnost od bioakumulacije postoji, no ona ne predstavlja rizik za sisavce ili ptice (EPA, 2009b). U literaturi nema podataka o utjecaju ostalih spinosina na zdravlje čovjeka i druge životinje.

OTROVNOST I OPASNOST ZA KORISNE ORGANIZME

U usporedbi s drugim insekticidima, spinosini su zbog svoje selektivnosti i povoljnog ekotoksikološkog profila manje otrovni za korisne i neciljane organizme te su klasificirani kao materijal smanjenog rizika (EPA, 2009a). Brojna istraživanja provedena na ukupno 52 vrste prirodnih neprijatelja (27 predatora i 25 parazitoida) u poljskim i laboratorijskim uvjetima pokazala su da spinosad ima vrlo mali učinak na predatore, dok su parazitoidi puno osjetljiviji (Williams i sur., 2003). To su potvrdila i neka druga istraživanja u kojima se spinetoram pokazao otrovnim za parazitoide, osice iz reda Hymenoptera koje imaju važnu ulogu u prirodnom suzbijanju štetnika (Nasreen i sur., 2000; Tillman i Mulrooney, 2000; Consoli i sur., 2001). Spinosad je također djelovao smrtno na parazitoide, ali nije štetno utjecao na jedinke prisutne unutar parazitiranih lisnih uši, dok su neki drugi insekticidi ubijali parazitoide i unutar uši (Ohta i Takeda, 2015).

Vrste stjenica *Orius insidiosus* (Say, 1832) i *Geocoris punctipes* (Say, 1832), božja ovčica *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, 1842 i zlatooka *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) pokazale su različitu osjetljivost na spinosad. Stjenica *G. punctipes* bila je najmanje osjetljiva, dok je zlatooka bila najosjetljivija (Elzen i sur., 1998). Pokazano je da pri suzbijanju tripsa vrste *F. occidentalis* spinosad nema negativnog učinka na njegovog predatora stjenicu *O. insidiosus* (Broughton i sur., 2014). Spinosad također nema utjecaja na predatorsku grinju *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957 (Cote i sur., 2002), a pri preporučenim dozama gotovo je bezopasan (smrtnost < 30 %) za većinu predatorskih grinja (Williams i sur., 2003). Razne korisne vrste iz reda Diptera puno su osjetljivije na spinosad jer njegovo djelovanje zaustavlja razvoj ličinki (Stevens i sur., 2005) i umanjuje mogućnost izlaska odraslih iz kukuljica (Duchet i sur., 2015).

Spinosini su otrovni za pčele (Bret i sur., 1997). Spinosad je umjereno (Scott-Dupree i sur., 2009) do visoko (EPA, 2009a) otrovan za neke vrste pčela i drugih oprašivača, dok je spinetoram jako otrovan pri izravnoj primjeni ili kontaktu pčele s ostatcima na cvjetovima (EPA, 2009b). Međutim, kada se rezidue osuše

(nakon nekoliko sati), spinosad je mnogo manje otrovan za pčele i druge korisne organizme (Bret i sur., 1997). Pretpostavlja se da se isto događa i s ostatcima spinetoramama jer spinosini brzo degradiraju u okolišu (Williams i sur., 2003). Negativan učinak na pčele može se postići tretiranjem cvatova u vrijeme kada je aktivnost pčela niska (Miles, 2003).

Primjena spinosada u dozama od 25 do 150 g/ha ne uzrokuje velike učinke na respiraciju mikroflora u tlu i nema znatnijeg djelovanja na gujavice ($LD_{50} > 970$ mg/kg) (EPA, 2009a). Spinetoram je umjereno otrovan za gujavice ($LC_{50} > 500$ mg/kg) (PPDB, 2018). Malo je istraživani učinak spinosada na detritivorne vrste kukaca u tlu i njihove predatore, uključujući mrave i skokunce. Međutim, kako su neki pripravci spinosada dopušteni za suzbijanje vatrene mrave koji se zadržavaju u gornjim slojevima tla, vjerojatno je da ima učinka na takvu faunu tla (EPA, 2009a). U literaturi nema podataka o utjecaju spinetoramama ili drugih spinosina na razne člankonošce i druge organizme u tlu.

PONAŠANJE U OKOLIŠU I NA BILJCI

Spinosini nisu dugo perzistentni u različitim dijelovima okoliša i relativno se brzo razgrađuju (Salgado i Sparks, 2010). U laboratorijskim je uvjetima vrijeme poluživota spinosada u aerobnom tlu oko 17 dana, a u sterilnom tlu pod utjecajem svjetla razgradi se za oko 10 dana (EPA, 2009a). Prema drugim podacima spinosad je relativno perzistentan u tlu: mikroorganizmi ga razgrađuju u druge spinosine koji mogu ostati biološki aktivni i nekoliko mjeseci. Ponovljena primjena također može dovesti do manjeg nakupljanja spinosina u tlu (Saunders i Bret, 1997). Iako je spinosin A 18 puta više topiv u vodi od spinosina D, jače se veže uz čestice tla te ima slabu mobilnost u pjeskovitom tlu, a u ilovači nije mobilan. Zbog toga nema opasnosti od ispiranja u podzemne vode (EPA, 2009a). Desetomjesečno istraživanje u SAD-u pokazalo je da se produkti razgradnje spinosada ne mogu naći u tlu ispod 60 cm (Saunders i Bret, 1997). Spinosad je hidrolitički stabilan, no uz svjetlost u vodi brzo se razgrađuje. U sterilnoj vodi (pH 7) fotolizom se razgrađuje unutar jednog dana (EPA, 2009a). Bez utjecaja svjetla vrijeme poluživota spinosina A i D u blago lužnatoj vodi najmanje je 200 dana. Spinosad je perzistentan u sedimentu te u takvom anarobnom tlu ima vrijeme poluživota oko 250 dana (Kollman, 2002).

Spinetoram se u okolišu ponaša slično spinosadu. Aerobnim metabolizmom u tlu razgrađuje se za tri do 31 dan, a fotolizom u tlu za 19 do 88 dana. U poljskim uvjetima na tlu i u vodi vrijeme poluživota je jedan do dva dana (EPA, 2009b). Slabo je topiv u vodi i ima visok afinitet za čestice tla, odnosno sedimenta, što znači da je u tlu imobilan. Produkti razgradnje nisu nađeni u tlu ispod 15 cm. Slično spinosadu, u sedimentu se razgrađuje puno sporije, s vremenom poluživota od 116 do 1386 dana (EPA, 2009b).

Na površini listova biljaka spinosad je slabo perzistentan jer je fotolabilan: vrijeme poluživota spinosina A je dva do 12 dana, ovisno o količini svjetla (Kollman, 2002). U literaturi nema podataka o razgradnji spinetoram na površini biljaka, ali se pretpostavlja da se brzo razgrađuje fotolizom. Spinosad i spinetoram pokazuju translaminarno djelovanje nakon ulaska u biljku te su lokalni sistemici (EPA, 2009a, Shimokawatoko i sur., 2012). Djelomice ulaze u biljku preko listova, a to pojačava njihovo djelovanje tijekom vremena. Dodatak surfaktanata može poboljšati njihov unos u biljno tkivo (EPA, 2009a). Kada se osuše na listu, njihove su rezidue vrlo malo štetne za vrste kukaca koje nisu fitofagne. Folijarnom primjenom u preporučenim dozama nisu fitotoksični za biljke (Saunders i Bret, 1997). U literaturi nema podataka o ponašanju drugih spinosina u okolišu i na biljci.

UČINKOVITOST I PRIMJENA

Spinosini su razvijeni prvenstveno za suzbijanje ekonomski važnih štetnika, no koriste se i za kukce od sanitarnog značenja (paraziti na životinjama i čovjeku) (Bacci i sur., 2016). Najveću učinkovitost unutar grupe spinosina pokazuju spinosad (gotovo podjednako komponente A i D) i spinetoram (Kirst, 2010). Djeluju kontaktno i želučano (Shimokawatoko i sur., 2012). Spinosad ima kontaktno djelovanje na sve stadije štetnika uključujući jaja, ličinke i odrasle jedinke. Jaja moraju biti izravno tretirana, a djelovanje na ličinke i odrasle može biti i putem kontakta s tretiranom površinom. Spinosad je najučinkovitiji kada se unese oralno, zbog čega pokazuje veću selektivnost i pošteđuje prirodne neprijatelje i druge organizme (Cleveland i sur., 2001). Prvi put je registriran 1997. godine u Kaliforniji, SAD (EPA, 1999). U usporedbi sa spinosadom, spinetoram pokazuje brže, jače i dulje djelovanje u suzbijanju štetnika, a poput spinosada ima široku primjenu i ne djeluje štetno na korisne organizme i okoliš (Crouse i sur., 2007; Dripps i sur., 2008). Spinetoram je prvi put registriran 2007. godine na Novom Zelandu, deset godina nakon prve registracije spinosada (EPA, 2009).

Spinosini imaju jako insekticidno djelovanje na velik broj štetnika, prvenstveno iz redova Lepidoptera i Diptera, ali i brojnih drugih redova (Hemiptera, Thysanoptera, Isoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera) (Thompson i sur., 1995; Sparks i sur., 1996; Crouse i sur., 2001). Insekticidno djelovanje spinetoram na neke važnije štetnike prikazano je u tablici 1. U početku su spinosini bili posebice zanimljivi zbog učinkovitosti na brojne vrste gusjenica leptira koje su u doba otkrića spinosina činile velike štete na kukuruзу, pamuku, duhanu i nekim drugim kulturama u SAD-u. Spinosad, tada novi insekticid, pokazao se kao izvrsno rješenje. U istraživanju u Louisiani (1989.-1995.) spinosad je pokazao jednaku ili veću učinkovitost u suzbijanju nekoliko vrsta gusjenica iz porodice Noctuidae (*Heliothis virescens* (Fabricius,

1777), *Helicoverpa zea* Boddie, 1850 i *H. armigera* (Hübner, 1805)) u usporedbi s piretroidima, organofosfornim insekticidima i karbamatima (Leonard i sur., 1996). Slične rezultate dobili su Sparks i sur. (1998), gdje se spinosin A pokazao jednako učinkovitim na vrstu *H. virescens* kao i piretroidi.

Tablica 1. Srednja letalna koncentracija (LC₅₀) spinetorama i mortalitet (Shimokawatoko i sur., 2012)

Table 1 Median lethal concentration (LC₅₀) of spinetoram and mortality (Shimokawatoko i sur., 2012)

Red	Vrsta	Razvojni stadij	Kultura	Metoda	DAT*	LC ₅₀ (ppm)
Lepidoptera	<i>Plutella xylostella</i>	ličinka 3. stadija	kupus	umakanje (list)	4	0,01
	<i>Spodoptera litura</i>	ličinka 3. stadija	kupus	umakanje (list)	4	1,17
	<i>Pieris rapae crucivora</i>	ličinka srednjeg stadija	kupus	umakanje (list)	4	0,02
	<i>Helicoverpa armigera</i>	ličinka 3. stadija	kupus	umakanje (list)	4	0,08
	<i>Trichoplusia ni</i>	ličinka 3. stadija	kupus	umakanje (list)	4	0,01
	<i>Adoxophyes honmai</i>	ličinka srednjeg stadija	zeleni čaj	umakanje (list)	10	0,94
	<i>Homona magnanima</i>	ličinka 3. stadija	zeleni čaj	umakanje (list)	4	0,87
	<i>Adoxophyes orana fasciata</i>	ličinka 3. stadija	jabuka	folijarno	4	0,11
	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	ličinka kasnog stadija	riža	umakanje (list)	4	0,06
	<i>Thrips palmi</i>	odrasli	krastavac	umakanje (list)	3	0,019
Thysanoptera	<i>Scirtothrips dorsalis</i>	odrasli	zeleni čaj	umakanje (list)	3	0,038
Red	Vrsta	Razvojni stadij	Kultura	Metoda	DAT	Mortalitet (%)
Diptera	<i>Liriomyza sativae</i>	ličinka ranog stadija	krastavac	umakanje (list)	3	23 ppm: 100
	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	ličinka ranog stadija	krastavac	umakanje (list)	3	23 ppm: 100
Hemiptera	<i>Bemisia tabaci</i>	nimfa prvog stadija	kupus	umakanje (list i kukac)	4	47 ppm: 98

Spinosad i spinetoram učinkovito suzbijaju tripse (*Frankliniella occidentalis* Pergande (1895), *F. tritici* Fitch, 1855 i *F. bispinosa* (Morgan, 1913)), pri čemu se spinetoram pokazao učinkovitim u dvostruko manjoj dozi od spinosada (Bacci i sur., 2016). Iako su lokalni sistemici, dodatkom surfaktanata povećava se njihova apsorpcija u biljno tkivo pa tako djeluju i na lisne minere (Larson, 1997). Uspješno suzbijaju i muhe, primjerice vrstu *Bactrocera oleae* (Gmelin, 1790), no istraživanja su pokazala da se spinosad zadržava u maslinama tijekom prerade (Angioni i sur., 2011). Spinosad je testiran i za suzbijanje vrste *Rhagoletis cerasi* (Linnaeus, 1758), a korišten je u voćnim hranidbenim mamcima zajedno s entomopatogenim nematodama (Daniel i Grunder, 2012). Također, voće tretirano spinosadom, uz koji su korišteni i mamci, bilo je osam puta manje oštećeno nego pri primjeni nekih drugih „privuci i ubij“ metoda u suzbijanju vrste *Ceratitis capitata* (Wiedeman, 1824) (Navarro-Llopis i sur., 2013).

Brojna laboratorijska i poljska istraživanja na različitim vrstama skladišnih štetnika iz redova Coleoptera i Lepidoptera dokazala su učinkovitost spinosada i spinetorama u njihovom suzbijanju, dok su neke vrste, poput *Sitophilus zeamais* Motchulsky, 1855, *S. oryzae* (Linnaeus, 1763), *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758) i *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, 1868, bile različito osjetljive (Hertlein i sur., 2011). Spinetoram se pokazao učinkovitijim od imidakloprida, tiametoksama i klorantraniliprola u suzbijanju vrste *Tribolium castaneum* (Herbst, 1787) (Vassilakos i Athanassiou, 2013).

Spinosad u preporučenim dozama nije učinkovit protiv grinja (Thompson i sur., 2000), što je važno u očuvanju grinja koje su prirodni neprijatelji. Djelovanje protiv grinja iskazuje u zaštićenim prostorima, a u polju je ono slabo (zbog fotolabilnosti i slabog prodora u grinje) (Crouse i sur., 2001). Spinetoram se pak pokazao puno učinkovitijim u suzbijanju grinja u usporedbi s abamektinom, drugim naturalitom širokog spektra djelovanja (El-Kady i sur., 2007).

Uspoređujući s regulatorima rasta i razvoja (IGR), lufenuron, klorfluazuron i metoksifenozyd bili su gotovo deset puta učinkovitiji od spinosada, odnosno oko dva puta učinkovitiji od spinetorama u suzbijanju vrste *Spodoptera littoralis* Boisduval, 1833 (Bacci i sur., 2016). Zapaženo je uzajamno djelovanje spinosina i IGR-a, pri čemu je kombinacija spinosada i IGR-a imala veće potencirajuće djelovanje nego kombinacija spinetorama i IGR-a. Također, smjese su bile otrovnije kada je koncentracija spinosada ili spinetorama u njima bila veća od koncentracije IGR-a (Rahman i Abou-Taleb, 2007).

Uspoređujući s metoksifenozidom i klorantraniliprolom, spinetoram se pokazao učinkovitim u suzbijanju vrste *Eupoecilia ambiguella* (Hübner, 1796), a još je učinkovitiji na vrstu *Lobesia botrana* (Denis i Schiffermüller, 1775) (Forte i sur., 2014). Od ostalih važnijih štetnika zabilježena je učinkovitost spinetorama u suzbijanju vrsta *Cacopsylla pyri* (Linnaeus, 1761), *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758), *C. molesta* (Busck, 1916) i *Pandemis cerasana* Hübner, 1786 (Boselli i

Scannavini, 2014; Tescari i sur., 2014). Spinosad se pokazao deset puta učinkovitiji od novalurona u suzbijanju vrste *Tessaratoma javanica* (Thunberg, 1783) (Choudhary i sur., 2015).

Spinosad je u Hrvatskoj registriran kao kontaktno-probavni insekticid za suzbijanje štetnika na krumpiru i vinovoj lozi. Smije se koristiti i protiv raznih drugih štetnika koji se javljaju na jabuci, paprici i krastavcima u zaštićenom prostoru, na jagodi, luku, češnjaku, kupusnjačama i brojnim drugim kulturama. Kao insekticidni mamac s atraktantom spinosad se koristi za suzbijanje štetnika (maslinina muha, mediteranska voćna muha i voćne muhe) u maslinama i agrumima (Bažok, 2018; FIS, 2018). Spinetoram je također dopušten za uporabu u Hrvatskoj kao insekticid namijenjen suzbijanju štetnika (groždani moljci, savijači, tripsi, vinske mušice) u vinogradarstvu i suzbijanju štetnika (breskvini i jabukov savijač, obična kruškina buha i drugi) u voćarstvu (Bažok, 2018; FIS, 2018).

REZISTENTNOST I UNAKRSNA REZISTENTNOST

Pojava štetnika rezistentnih na insekticide događa se najčešće kada se dugotrajno primjenjuju insekticidi istog mehanizma djelovanja (Roush i Tabashnik, 1991). Rezistentnost štetnika na spinosad i spinetoram u početku primjene nije bila očekivana jer je njihov mehanizam djelovanja različit od bilo kojeg do sada poznatog mehanizma (Kirst, 2010). No, kao u slučaju drugih insekticida, pretpostavljalo se da će kontinuirana primjena selektivnim pritiskom vjerojatno dovesti do razvoja rezistentnosti. Stoga je otkrivanju rezistentnosti na spinosine pristupljeno strateški kako bi se umanjila mogućnost njenog razvoja i širenja te na taj način doprinijelo razvoju antirezistentnih strategija (Salgado i Sparks, 2010).

Provedeni su brojni laboratorijski pokusi u kojima je namjerno izazvana i dokazana rezistentnost na spinosine. Primjerice, rezistentnost na spinosad izazvana je u laboratoriju kod vrste *H. virescens* nakon uzgoja 14 generacija prema specifičnom protokolu (Bailey i sur., 1999). Slično je postignuto i kod vrste *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Shono i Scott, 2003). Neke su studije potvrdile pojavu rezistentnosti prvo u laboratoriju, a zatim i u polju, primjerice kod vrsta *D. melanogaster*, *Liriomyza trifolii* (Burgess 1880), *H. armigera* i *F. occidentalis* (Sparks i sur., 2012). Jedan od prvih slučajeva pojave rezistentnosti na spinosad zabilježen je kod poljske populacije vrste *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) na Havajima koja je razvila rezistentnost 2000. godine, odnosno 2,5 godine nakon intenzivne primjene spinosada (Zhao i sur., 2002). U istom je istraživanju dokazana i rezistentnost vrste *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) na Tajlandu, s tim da su postojale razlike u osjetljivosti između navedenih vrsta (*S. exigua* bila je 85 puta manje osjetljiva, dok je *P. xylostella* bila čak 13100 puta manje osjetljiva na spinosad) (Zhao i sur., 2002). Nedugo nakon toga rezistentnost na spinosad ustanovljena je kod poljske populacije

vrste *P. xylostella* u Maleziji (Sayyed i sur., 2004) i vrste *L. trifolii* prikupljene u staklenicima u SAD-u (Ferguson, 2004). U staklenicima u Australiji zabilježena je prva pojava manjeg udjela rezistentnih populacija tripsa vrste *F. occidentalis* (Herron i James, 2005), dok je učestala primjena spinosada (više od deset primjena po kulturi) u staklenicima u Španjolskoj (Bielza i sur., 2007) i u poljskim populacijama u Kini (Li i sur., 2016) dovela do razvoja rezistentnih populacija tripsa. Istraživanja su pokazala da su neuroni rezistentnih kukaca manje osjetljivi na spinosine (Roe i sur., 2010), odnosno da je rezistentnost na spinosine vezana uz mutacije u receptorima (podjedinicama) na koje se oni vežu (Wang i sur., 2016).

Drugi je problem koji se može pojaviti unakrsna rezistentnost kada štetniku mehanizam rezistentnosti omogući da bude rezistentan i na insekticide drukčijeg mehanizma djelovanja. Do danas je provedeno više od 90 istraživanja kojima je ispitana unakrsna rezistentnost na spinosine kod štetnika za koje je poznato da su rezistentni na velik broj drugih insekticida. Ustanovljena je nikakva ili vrlo niska razina unakrsne rezistentnosti za spinosad i spinetoram (Sparks i sur., 2012). Jedan je od rijetkih zabilježenih slučajeva unakrsna rezistentnost na *Bacillus sphaericus* kod populacija rezistentnih na spinosad (Su i Cheng, 2014).

ZAKLJUČCI

Spinosini predstavljaju važnu grupu insekticida učinkovitih u suzbijanju ekonomski važnih štetnika. Komercijalno se koriste spinosad i spinetoram. Zahvaljujući selektivnosti i jedinstvenom mehanizmu djelovanja, imaju široku primjenu, a ponekad su i jedina alternativa u odnosu na druge insekticide. Kontaktno i želučano djelovanje omogućuje im primjenu u suzbijanju štetnike iz različitih redova, a najučinkovitiji su protiv gusjenica leptira. Ekološki su vrlo prihvatljivi te je u EU-u dopuštena uporaba u ekološkoj proizvodnji. Rezistentnost je rijetko zabilježena, no njen je razvoj moguć pa bi spinosine valjalo kombinirati ili izmjenjivati s insekticidima drugog mehanizma djelovanja. Otkrića spinetorama, butenil-spinosina i ciklobutil-spinosina pokazuju da postoje brojni potentniji analozi spinosada te da se daljnjim istraživanjima mogu naći ili stvoriti spinosini još jačeg djelovanja. Otkriće i komercijalni razvoj spinosina primjer je uspjeha ispunjavanja potencijala prirodnih produkata u pronalaženju novih, komercijalno korisnih i vrijednih proizvoda koji se mogu koristiti u integriranoj zaštiti bilja.

LITERATURA

ANGIONI, A., PORCU, L., PIRISI, F. (2011). LC/DAD/ESI/MS Method for the Determination of Imidacloprid, Thiacloprid, and Spinosad in olives and olive oil after field treatment. J. Agric. Food Chem., Vol. 59, 20: 11359-11366.

BACCI, L., LUPI, D., SAVOLDELLI, S., ROSSARO, B. (2016). A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. *J. Entomol. Acarol. Res.*, Vol. 48, 1: 40-52.

BAILEY, W. D., YOUNG, H. P., ROE, R. M. (1999). Laboratory selection of a Tracer® resistant strain of tobacco budworm and comparisons with field selected strains from the southeastern. ed. Dugger P., Richter D. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference*, Orlando, Florida, 3-7. 1. 1999., pp 1221-1224.

BAŽOK, R. (2018). Zoocidi. U: *Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2018. godinu* (R. Bažok ur.). *Glasilo biljne zaštite*, Vol. 18, 1-2: 13-103.

BIELZA, P., QUINTO, V., CONTRERAS, J., TORNÉ, M., MARTÍN, A., ESPINOSA, P. J. (2007). Resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in greenhouses of south-eastern Spain. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 63, 7:682-7.

BOSELLI, M., SCANNAVINI, M. (2014). Efficacia di Spinetoram (Delegate Wg) nei confronti dei principali insetti dannosi al pero. ed. Brunelli, A., Collina, M., Atti, *Giornate Fitopatologiche*, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014., Vol. 1: 27-36.

BRET, B. L., LARSON, L. L., SCHOONOVER, J. R., SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D. (1997). Biological properties of spinosad. *Down to Earth*, Vol. 52: 6-13.

BROUGHTON, S., HARRISON, J., RAHMAN, T. (2014). Effect of new and old pesticides on *Orius armatus* (Gross) - an Australian predator of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Manage. Sci.*, Vol. 70, 3: 389-397.

CHOUDHARY, J., MOANARO, S., NAAZ, N., IDRIS, M. D. (2015). Determination bio-efficacy of insecticides against litchi stink bug, *Tessaratoma javanica* (Thunberg) (Hemiptera: Tessaratomidae): an emerging major pest of litchi, *Litchi chinensis* Sonn. *Bioscan*, Vol. 10, 1: 217-222.

CLEVELAND, C. B., MAYES, M. A., CRYER, S. A. (2001). An ecological risk assessment for spinosad use on cotton. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 58, 1: 70-84.

CONSOLI, F. L., BOTELHO, P. S. M., PARRA, J. R. P. (2001). Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae). *J. App. Entomol.*, Vol. 125, 1-2: 37-43.

COTE, K. W., EDWIN, E. L., SCHULTZ, P. B. (2002). Compatibility of acaricide residues with *Phytoseiulus persimilis* and their effects on *Tetranychus urticae*. *HortSci.*, Vol. 37, 6: 906-909.

CROUSE, G. D., SPARKS, T. C., SCHOONOVER, J., GIFFORD, J., DRIPPS, J., BRUCE, T., LARSON, L. L., GARLICH, J., HATTON, C., HILL, R. L., WORDEN, T. V., MARTYNOW, J. G. (2001). Recent advances in the chemistry of spinosyns. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 57, 2: 177-185.

CROUSE, G. D., DRIPPS, J. E., ORR, N., SPARKS, T. C., WALDRON, C. (2007). DE-175 (spinetoram), a new semi-synthetic spinosyn in development. U: *Modern Crop Protection Compounds*, Vol. 3 (W. Kramer i U. Schirmer ur.). Weinheim, Germany. Wiley - VCH, pp 1013–1031.

CROUSE, G. D., DEMETER, D. A., SAMARITONI, G., MCLEOD, C. L., SPARKS, T. C. (2018). De Novo Design of Potent, Insecticidal Synthetic Mimics of the Spinosyn Macrolide Natural Products. *Sci. Rep.-UK*, Vol. 8, 1: 4861.

DANIEL, C., GRUNDER, J. (2012). Integrated management of European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (L.): situation in Switzerland and Europe. *Insects*, Vol. 3, 4: 956-988.

DEAMICIS, C. V., DRIPPS, J. E., HATTON, C. J., KARR, L. L. (1997). Physical and biological properties of the spinosyns: novel macrolide pest control agents from fermentation. U: *Phytochemicals for Pest Control* (P. A. Hedin, R. Hollingworth, E. P. Masler, J. Miyamoto, D. Thompson ur.). Washington, DC, SAD. American Chemical Society, pp 144-154.

DEMAIN, A. L., SANCHEZ, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J. Antibiot.*, Vol. 62, 1: 5-16.

DRIPPS, J., OLSON, B., SPARKS, T., CROUSE, G. (2008). Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress*, (<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/>), pristupljeno 23. studenog 2018.

DUCHET, C., FRANQUET, E., LAGADIC, L., LAGNEAU, C. (2015). Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* and spinosad on adult emergence of the non-biting midges *Polypedilum nubifer* (Skuse) and *Tanytarsus curticornis* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in coastal wetlands. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, Vol. 115: 272-278.

EGTOP (2016). Final report on plant protection (III), Expert Group for Technical Advice on Organic Production, European Commission, (https://ec.europa.eu/agriculture/organic/sites/orgfarming/files/egtop_plant_protection_iii-2016-10-26-definitive_version.pdf), pristupljeno 17. studenog 2018.

EL-KADY, G. A., EL-SHARABASY, H. M., MAHMOUD, M. F., BAHGAT, I. M. (2007). Toxicity of two potential bio-insecticides against moveable stages of *Tetranychus urticae* Koch. *J. Appl. Sci. Res.*, Vol. 3, 11: 1315-1319.

ELZEN, G. W., ELZEN, P. J., KING, E. G., DUGGER, P., RICHTER, D. (1998). Laboratory toxicity of insecticide residues to *Orius insidiosus*, *Geocoris punctipes*, *Hippodamia convergens*, and *Chrysoperla carnea*. *Southwest. Entomol.*, Vol. 23: 335-343.

EPA (1997). Spinosad - 110003, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-110003_9-Jan-97_015.pdf), pristupljeno 25. studenog 2018.

EPA (1999). Pesticide Fact Sheet: Spinosad, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-110003_19-Jul-99.pdf), pristupljeno 27. studenog 2018.

EPA (2009a). Pesticide Fact Sheet: Spinosad, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-110003_4-May-09_a.pdf), pristupljeno 27. studenog 2018.

EPA (2009b). Pesticide Fact Sheet: Spinetoram, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_G-4674_01-Oct-09.pdf), pristupljeno 28. studenog 2018.

FERGUSON, J. S. (2004). Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin, and spinosad. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 97, 1: 112-119.

FIS (2018). Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja, Ministarstvo poljoprivrede, (<https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>), pristupljeno 5. prosinca 2018.

FORTE, V., ANGELINI, E., CRESTANI, D., PATRIARCA, E., GANZINI, L., PAVAN, F. (2014). Attività di methoxyfenozide e spinetoram contro le tignole della vite nell'Italia Nord-Orientale. ed. Brunelli, A., Collina, M., Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014., 1: 147-156.

GRAUPNER, P. R., MARTYNOW, J., ANZEVENO, P. B. (2005). Spinosyn G, proof of structure by semisynthesis. *J. Org. Chem.*, Vol. 70, 6: 2154-2160.

HERRON, G. A., JAMES, T. M. (2005). Monitoring insecticide resistance in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) detects fipronil and spinosad resistance. *Aust. J. Entomol.*, Vol. 44, 3: 299-303.

HERTELEIN, M. B., THOMPSON, G. D., SUBRAMANYAM, B., ATHANASSIOU, C. G. (2011). Spinosad: a new natural product for stored grain protection. *J. Stored Prod. Res.*, Vol. 47, 3: 131-146.

HUANG, K. X., XIA, L., ZHANG, Y., DING, X., ZAHN, J.A. (2009). Recent advances in the biochemistry of spinosyns. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 82, 1: 13-23.

IRAC (2018). The IRAC Mode of Action Classification, Insecticide Resistance Action Committee, (<https://www.irac-online.org/modes-of-action/>), pristupljeno 10. studenog 2018.

KIRST, H. A., MICHEL, K. H., MYNDERSE, J. S., CHAO, E. H., YAO, R. C., NAKATSUKASA, W. M., BOECK, L. D., OCCLOWITZ, J., PASCHEL, J. W., DEETER, J. B., THOMPSON, G. D. (1992). Discovery, isolation and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation- derived tetracyclic macrolides. U: Synthesis and chemistry of Agrochemicals (D. R. Baker, J. G. Fenyes, J. J. Steffens ur.). Washington, DC, SAD. American Chemical Society, Vol. 3: 214-225.

KIRST, H. A., MICHEL, K. H., MYNDERSE, J. S., CHIO, E. H., YAO, R. C., NAKATSUKASA, W. M., BOECK, L., OCCLOWITZ, J. L., PASCHAL, J. W., DEETER, J. B., THOMPSON, G. D. (1993). Discovery and Identification of a novel fermentation derived insecticide. U: Development in Industrial Microbiology Series: Microbial Metabolites (W. C. Brown ur.). Washington, DC, SAD. Society for Industrial Microbiology, Vol. 32, pp 109-116.

KIRST, H. A. (2010). The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J. Antibiot.*, Vol. 63, 3:101-111.

KOLLMAN, W. S. (2002). Environmental fate of Spinosad, (https://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/spinosad_fate.pdf), pristupljeno 1. prosinca 2018.

KORNIS, G. I. (1995). Avermectins and milbemycins. U: Agrochemicals from Natural Products (C. R. A. Godfrey ur.). New York, SAD. Marcel Dekker, pp 215-255.

LARSON, L. L. (1997). Effects of adjuvants on the activity of Tracer® 480SC on cotton in the laboratory. *Arthropod Management Tests*, Vol. 22, 1: 415-416.

LEONARD, B. R., GRAVES, J. B., BURRIS, E., MICINSKI, S., MASCARENHAS, V., MARTIN, S. H. (1996). Evaluation of selected commercial and experimental insecticides against lepidopteran cotton pests in Louisiana. ed. Dugger P., Richter D. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, Nashville, TN, 9-12. 2. 1996., pp 285-830.

LEWER, P., HAHN, D. R., KARR, L. L., DUEBELBEIS, D. O., GILBERT, J. R., CROUSE, G. D., WORDEN, T., SPARKS, T. C., EDWARDS, P. M., GRAUPNER, P. R. (2009). Discovery of the butenyl-spinosyn insecticides: novel macrolides from the new bacterial strain *Saccharopolyspora pogona*. *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 17, 12: 4185-4196.

LI, D.-G., SHANG, X.-Y., REITZ, S., NAUEN, R., LEI, Z.-R., LEE, S. H., GAO, Y.-L. (2016). Field resistance to spinosad in western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *J. Integr. Agr.*, Vol. 15, 12: 2803-2808.

MERTZ, F. P., YAO, R. C. (1990). *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Int. J. System. Bacteriol.*, Vol. 40, 1: 34-39.

MILES, M. (2003). The effects of spinosad, a naturally derived insect control agent to the honeybee. *Bull. Insectol.*, Vol., 56, 1: 119-124.

NASREEN, A., ASHFAQ, M., MUSTAFA, G. (2000). Intrinsic toxicity of some insecticides to egg parasitoid *Trichogramma chilonis* (Hym. Trichogrammatidae). *Bull. Inst. Trop. Agric.*, Vol. 23: 41-44.

NAVARRO-LLOPIS, V., PRIMO, J., VACAS, S. (2013). Efficacy of attract-and-kill devices for the control of *Ceratitis capitata*. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 69, 4: 478-482.

OHTA, I., TAKEDA, M. (2015). Acute toxicities of 42 pesticides used for green peppers to an aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae), in adult and mummy stages. *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 50, 2: 207-212.

ORR, N., SHAFFNER, A. J., RICHEY, K., CROUSE, G. D. (2009). Novel mode of action of spinosad: receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 95, 1: 1-5.

PERRY, T., SOMERS, J., TING YANG, Y., BATTERHAM, P. (2015). Expression of insect $\alpha 6$ -like nicotinic acetylcholine receptors in *Drosophila melanogaster* highlights a high level of conservation of the receptor: spinosyn interaction. *Insect Biochem. Molec.*, Vol. 64: 106-115.

PPDB (2018). Spinetoram (Ref: XDE 175), Pesticide Properties DataBase, <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1144.htm> (pristupljeno 29. 11. 2018.)

RAHMAN, S. M. A., ABOU-TALEB, H. K. (2007). Joint toxic action of spinosad and spinetoram with certain IGR compounds against cotton leafworm. *Alexandria J. Agric. Res.*, Vol. 52, 3: 45-51.

ROE, R. M., YOUNG, H. P., IWASA, T., WYSS, C. F., STUMPF, C. F., SPARKS, T. C., WATSON, G. B., SHEETS, J. J., THOMPSON, G. D. (2010). Mechanism of resistance to spinosyn in the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 96, 1: 8-13.

ROUSH, R. T., TABASHNIK, B. E. (1991). *Pesticide resistance in Arthropods*, New York, Springer US.

SALGADO, V. L. (1998). Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 60, 2: 91-102.

SALGADO, V. L., SAAR, R. (2004) Desensitizing and non-desensitizing subtypes of alpha-bungarotoxin sensitive nicotinic acetylcholine receptors in cockroach neurons. *J. Insect Physiol.*, Vol. 50, 10: 867-879.

SALGADO, V. L., SPARKS, T. C. (2010). The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance. U: *Insect Control: Biological and Synthetic Agents* (L. I. Gilbert, S. S. Gill ur.). London, UK. Academic Press, pp 207-243.

SAUNDERS, D. G., BRET, B. L. (1997). Fate of spinosad in the environment. *Down to Earth*, Vol. 52, 1:14-20.

SAYYED, A. H., OMAR, D., WRIGHT, D. J. (2004). Genetics of spinosad resistance in a multi-resistant field-selected population of *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 60, 8: 827-832.

SCOTT-DUPREE, C. D., CONROY, L., HARRIS, C. R. (2009). Impact of currently used or potentially useful insecticides for canola agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 102, 1: 177-182.

SHIMOKAWATOKO, Y., SATO, N., YAMAGUCHI, Y., TANAKA, H. (2012). Development of the novel insecticide spinetoram (Diana®). *Sumitomo Kagaku*, 1-14.

SHONO, T., SCOTT, J. G. (2003). Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 75, 1-2: 1-7.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., LARSON, L. L., KIRST, H. A., JANTZ, O. K., WORDEN, T. V., HERTLEIN, M. B., BUSACCA, J. D. (1995). Biological characteristics of the spinosyns: new naturally derived insect control agents. ed. Richter D. A., Armour J. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, Texas, 4-7. 2. 1995.*, pp 903-907.

SPARKS, T. C., KIRST, H. A., MYNDERSE, J. S., THOMPSON, G. D., TURNER, J. R., JANTZ, O. K., HERTLEIN, M. B., LARSON, L. L., BAKER, P. J., BROUGHTON, M. C., BUSACCA, J. D., CREEMER, L. C., HUBER, M. L., MARTIN, J. W., NAKATSUKASA, W. M., PASCHAL, J. W., WORDEN, T. V. (1996). Chemistry and biology of the spinosyns: components of spinosad (Tracer®), the first entry into DowElanco's naturalyte class of insect control products. ed. Dugger P., Richter D. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, Nashville, TN, 9-12. 2. 1996.*, pp 692-696.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., KIRST, H. A., HERTLEIN, M. B., LARSON, L. L., WORDEN, T. V., THIBAUT, S. T. (1998). Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 91, 6: 1277-1283.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., KIRST, H. A., HERTLEIN, M. B., MYNDERSE, J. S., TURNER, J. R., WORDEN, T. V. (1999). Fermentation derived insect control agents – the spinosyns. *U: Biopesticides Use and Delivery* (F. Hall, J. J. Menn ur.). Totowa, NJ, SAD. Humana Press, pp 171-188.

SPARKS, T. C., CROUSE, G. D. DURST, G. (2001). Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure–activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest. Manag. Sci.*, Vol. 57, 10: 896-905.

SPARKS, T. C., DRIPPS, J. E., WATSON, G. B., PAROONAGIAN, D. (2012). Resistance and cross-resistance to the spinosyns - A review and analysis. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 102, 1: 1-10.

STEVENS, M. M., HELLIWELL, S., HUGHES, P. A. (2005). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations, spinosad, and selected synthetic insecticides to *Chironomus tepperi* larvae. *J. Am. Mosquito Control Assoc.*, Vol. 21, 4: 446-450.

SU, T., CHENG, M. L. (2014). Cross resistances in spinosad-resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, Vol. 51, 2: 428-435.

TESCARI, E., CHLORIDIS, A., BACCI, L., BRADASCIO, R., GIBERTI, A. (2014). Spinetoram (Delegate®, Radiant®), Nuovo insetticida ad ampio spettro d'azione. ed. Brunelli, A., Collina, M., *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014.*, Vol. 1: 11-20.

THOMPSON, G. D., BUSACCA, J. D., JANTZ, O. K., KIRST, H. A., LARSON, L. L., SPARKS, T. C. (1995). Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. ed. Richter D. A., Armour J. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, Texas, 4-7. 2. 1995.*, pp 1039-1043.

THOMPSON, G. HUTCHINS, S. (1999). Spinosad. *Pestic. Outlook*, 10: 78-81.

THOMPSON, G. D., DUTTON, R., SPARKS, T. C. (2000). Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 56, 8: 696-702.

TILLMAN, P. G., MULROONEY, J. E. (2000). Effects of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. J. Econ. Entomol., Vol. 93, 6: 1638-1643.

VASSILAKOS, T. N., ATHANASSIOU, G. C. (2013). Effect of temperature and relative humidity on the efficacy of spinetoram for the control of three stored product beetle species. J. Stored Prod. Res., Vol. 55: 73-77.

WANG, J., WANG, X., LANSDELL, S. J., ZHANG, J., MILLAR, N. S., WU, Y. (2016). A three amino acid deletion in the transmembrane domain of the nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 6$ subunit confers high-level resistance to spinosad in *Plutella xylostella*. Insect Biochem. Molec., Vol. 71: 29-36.

WATSON, G. B. (2001). Actions of insecticidal spinosyns on g-aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. Pestic. Biochem. Phys., Vol. 71, 1: 20-28.

WILLIAMS, T., VALLE, J., VINUELA, E. (2003). Is the naturally derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies? Biocontrol Sci. Techn., Vol. 13, 5: 459-475.

ZHAO, J. Z., LI, Y. X., COLLINS, H. L., GUSUKUMA-MINUTO, L., MAU, R. F. L., THOMPSON, G. D., SHELTON, A. M. (2002). Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. J. Econ. Entomol., Vol. 95, 2: 430-436.